

学校编码: 10384
学号: 21620060153294

分类号 _____ 密级 _____
UDC _____

厦门大学

博士 学位论文

醛糖还原酶通过调控肝代谢性核受体 PPAR α
的磷酸化及活性影响脂质稳态

Aldose Reductase Regulates Hepatic Peroxisome
Proliferator-activated Receptor α Phosphorylation and Activity
to Affect Lipid Homeostasis

邱龙新

指导教师姓名: 杨云青 教授、博导

专业名称: 动物学

论文提交日期: 2009 年 6 月

论文答辩时间: 2009 年 8 月

学位授予日期: 2009 年 月

答辩委员会主席: 温龙平 教授 博导

评 阅 人: _____

2009 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目录

中文摘要.....	1
英文摘要.....	3
缩略语对照表.....	5
第一章 前言	7
1.1 糖尿病与脂质代谢异常.....	7
1.1.1 糖尿病及其并发症.....	7
1.1.2 糖尿病血脂代谢异常.....	7
1.2 核受体与脂质代谢.....	10
1.2.1 PPARs 的亚型与结构.....	11
1.2.2 PPARs 的转录活性调控.....	12
1.2.3 PPAR α 与脂质代谢	17
1.2.4 PPAR γ 与脂质代谢及脂肪细胞分化.....	18
1.2.5 PPAR β/δ 与脂质代谢	20
1.3 多元醇糖代谢支路与醛糖还原酶.....	22
1.3.1 多元醇糖代谢支路/AR 的代谢特点与生理作用.....	22
1.3.2 多元醇糖代谢支路/AR与糖尿病及其并发症.....	24
1.3.3 AR介导的糖尿病与糖尿病并发症病理发生的分子机制以及细胞信号转导.....	25
1.4 研究的目的、意义及内容.....	27
1.4.1 研究意义.....	27
1.4.2 研究内容及研究目标.....	28
第二章 材料与方法.....	30
2.1 实验材料	30
2.1.1 细胞株.....	30
2.1.2 质粒.....	30
2.1.3 动物.....	30
2.1.4 主要试剂.....	30
2.1.5 主要仪器.....	32

2.1.6 常用溶液.....	34
2.2 实验方法.....	36
2.2.1 质粒构建及纯化实验.....	36
2.2.2 细胞培养.....	39
2.2.3 细胞转染.....	39
2.2.4 蛋白提取与 Western blot.....	40
2.2.5 PPARE 荧光素酶报告系统分析.....	41
2.2.6 AR 与 PPARE 转录活性.....	41
2.2.7 激酶抑制剂与 PPARE α 及 ERK1/2 表达及磷酸化.....	42
2.2.8 25 mM 葡萄糖对 AR、PPARE α 及 ERK1/2 的时间效应.....	42
2.2.9 葡萄糖、果糖对 PPARE 活性的影响.....	42
2.2.10 AR siRNA 干扰与 PPARE α 及 ERK1/2 表达及磷酸化.....	43
2.2.11 利用 RT-PCR 半定量分析 mRNA 表达水平.....	43
2.2.12 STZ 诱导糖尿病小鼠肝组织 PPARE α 及 ERK1/2 表达及磷酸化.....	43
2.2.13 db/db 糖尿病小鼠肝组织 PPARE α 及 ERK1/2 表达及磷酸化.....	44
2.2.14 生化分析.....	44
2.2.15 肝组织油红染色.....	45
2.2.16 数据处理与统计学分析.....	45
第三章 结果与分析.....	46
3.1 体外实验肝细胞中 AR 与 PPARE α 转录活性及其磷酸化的相关性.....	46
3.1.1 AR 过量表达抑制肝细胞 PPARE α/δ 转录活性及 ACO, CPT-1 的 mRNA 表达水平.....	46
3.1.2 AR 过量表达导致的 PPARE α/δ 转录活性抑制与 PPARE α 及 ERK1/2 的磷酸化相关.....	50
3.1.3 抑制 ERK1/2 显著减轻 AR 过量表达导致的肝细胞 PPARE α/δ 转录活性的下降,而抑制 PI3K, PKC, JNK 或 p38 无类似作用.....	51
3.1.4 高糖上调肝细胞 AR 表达,增强了 PPARE α 及 ERK1/2 的磷酸化并抑制了 PPARE α/δ 转录活性.....	53
3.1.5 siRNA 抑制 AR 表达导致了高糖诱导的肝细胞 PPARE α 及 ERK1/2 的磷酸化的下降.....	55

3.2 体内实验-肝 AR 与 PPAR α 磷酸化和活性及脂质代谢的影响.....	56
3.2.1 AR 缺失或抑制显著去除 STZ 诱导糖尿病小鼠肝组织 PPAR α 及 ERK1/2 的磷酸化及增强 PPAR α 活性.....	56
3.2.2 AR/多元醇通路缺失或抑制显著影响 STZ 诱导糖尿病小鼠血脂水平.....	60
3.2.3 抑制 AR 导致 db/db 糖尿病小鼠肝组织 PPAR α 的去磷酸化及活性上升.....	64
3.2.4 抑制 AR 显著影响 db/db 糖尿病小鼠肝脏脂质水平.....	69
3.2.5 抑制 AR 显著影响 db/db 糖尿病小鼠血脂水平.....	72
第四章 讨论.....	74
第五章 主要发现、结论和创新点.....	80
5.1 主要发现.....	80
5.2 结论.....	81
5.3 创新点.....	81
参考文献.....	83

Contents

Chinese abstract.....	1
English abstract.....	3
Abbreviations.....	5
Chapter 1 Introduction.....	7
1.1 Diabetes and lipid dysfunction.....	7
1.1.1 Diabetes and its complications.....	7
1.1.2 Diabetic dyslipidemia.....	7
1.2 Nuclear receptors and lipid metabolism.....	10
1.2.1 Subtype and structure of PPARs.....	11
1.2.2 Regulation of PPARs transcriptional activity.....	12
1.2.3 PPAR α and lipid metabolism.....	17
1.2.4 PPAR γ and lipid metabolism and preadipocyte differentiation...18	
1.2.5 PPAR β/δ and lipid metabolism.....	20
1.3 Polyol pathway and aldose reductase.....	22
1.3.1 Metabolic characters and physiological functions of polyol pathway/AR.....	22
1.3.2 Polyol pathway/AR and diabetes and its complications.....	24
1.3.3 Molecular mechanism and cell signaling pathways of AR induced diabetes and complications.....	25
1.4 Significance, aim and contents of this research.....	27
1.4.1 Significance of this research.....	27
1.4.2 Aim and contents of this research.....	28
Chapter 2 Materials and methods.....	30
2.1 Materials.....	30
2.1.1 Cell lines.....	30
2.1.2 Plasmids.....	30
2.1.3 Animals.....	30

2.1.4 Reagents.....	30
2.1.5 Instruments.....	32
2.1.6 Solutions.....	34
2.2 Methods.....	36
2.2.1 Construction and extraction of plasmids.....	36
2.2.2 Cell culture.....	39
2.2.3 Transfection.....	39
2.2.4 Cell lysis, tissue homogenesis and western blot.....	40
2.2.5 PPRE Luciferase reporter system assay	41
2.2.6 AR and PPAR transcriptional activity.....	41
2.2.7 Kinase inhibitors and ERK1/2 and PPAR α activities and phosphorylation.....	42
2.2.8 Time course effects of 25 mM Glucose on AR, PPAR α and ERK1/2 expression and phosphorylation.....	42
2.2.9 Effects of high glucose and fructose on PPAR activities.....	42
2.2.10 Effects of AR siRNA knocking down on PPAR α and ERK1/2 expression and phosphorylation.....	43
2.2.11 Semi-quantitative analysis of mRNA expression by RT-PCR.....	43
2.2.12 Hepatic PPAR α and ERK1/2 expression and phosphorylation in STZ-induced diabetic mice.....	44
2.2.13 Hepatic PPAR α and ERK1/2 expression and phosphorylation in db/db mice.....	44
2.2.14 Biochemical analysis.....	44
2.2.15 Oil red O staining of liver tissue.....	45
2.2.16 Statistical analysis.....	45
Chapter 3 Results.....	46
3.1 In vitro effects of AR on PPAR α transcriptional activity and phosphorylation in hepatocytes.....	46
3.1.1 AR up-regulation caused suppression in PPAR α / δ transcriptional activity and down-regulated mRNA expression of ACO, CPT-1.....	46
3.1.2 AR-induced PPAR α / δ suppression is associated with increased phosphorylation	

of PPAR α and ERK1/2.....	50
3.1.3 Inhibition of ERK1/2 but not PI3K,PKC,JNK or p38 significantly attenuated the AR-induced suppression of PPAR α / δ activity.....	51
3.1.4 High glucose time-dependently stimulated hepatic AR expression and increased phosphorylation of PPAR α and ERK1/2.....	53
3.1.5 siRNA knocking down of AR attenuated the high glucose-induced phosphorylation of PPAR α and ERK1/2.....	55
3.2 In vivo effect of hepatic AR up-regulation on PPAR α phosphorylation and lipid metabolism.....	56
3.2.1 AR deficiency or inhibition significantly decreased phosphorylation of hepatic PPAR α and ERK1/2 and increased PPAR α activity in STZ-induced diabetic mice...	56
3.2.2 AR/polyol pathway deficiency or inhibition significantly improved dyslipidemia in STZ-diabetic mice.....	60
3.2.3 AR inhibition significantly decreased phosphorylation and increased activity of hepatic PPAR α in db/db mice.....	64
3.2.4 AR inhibition significantly improved lipid metabolism in liver in db/db mice.....	69
3.2.5 AR inhibition significantly improved dyslipidemia in db/db mice	72
Chapter 4 Discussion.....	74
Chapter 5 Major findings, conclusion and innovation.....	80
5.1 Major findings.....	80
5.1 Conclusion.....	81
5.2 Innovation.....	81
References.....	83

中文摘要

醛糖还原酶 (aldose reductase, AR) 在糖尿病并发症的发生发展过程中扮演了重要的角色, 但其机制尚未完全阐明。在本项研究中, 我们利用细胞模型和动物模型, 就 AR 对肝脏过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor α , PPAR α) 转录活性和脂质代谢的影响进行了一系列的体内体外研究。

我们首先构建了 AR 表达载体 pFLAG-mAR, 将此质粒和含过氧化物酶体增殖物反应元件 (peroxisome proliferator response element, PPRE) 的荧光素酶报告质粒 PPRE-tk-Luc 共转染进 AML12 小鼠肝细胞中, 并在反应体系中用 PPAR γ 的拮抗剂 G3335 抑制 PPAR γ 的转录活性。我们利用这样一个系统研究了 AR 过量表达对 PPAR α/δ 的转录活性的影响。我们的结果显示, AR 在 AML12 小鼠肝细胞的过量表达强烈地抑制了 PPAR α/δ 的转录活性 (74%, $P < 0.001$), 而在培养基中加入 AR 抑制剂 zopolrestat 可以使 AR 过量表达诱导的 PPAR α/δ 转录活性的下降得到显著的改善。与此同时, RT-PCR 半定量分析结果显示, AR 诱导的 PPAR α/δ 转录活性的下降伴随着酰基辅酶 A 氧化酶 (acyl-CoA oxidase, ACO) 和肉碱棕榈酰转运酶-1 (carnitine palmitoyl transferase-1, CPT-1) 的 mRNA 表达水平的下降 (ACO 下降 34.3%, $P < 0.01$; CPT-1 下降 23.3%, $P < 0.05$)。ACO 和 CPT-1 是 PPAR α 的两个靶标基因, 与脂肪酸氧化密切相关。这些结果提示, AR 参与了对 PPAR α 转录活性的调控, 进而影响了脂质代谢。更进一步地, 利用 Western blot, 我们证明了 AR 的过量表达显著地增加了 PPAR α 的磷酸化水平, 其中第 12 位丝氨酸残基磷酸化增加了 2.2 倍 ($P < 0.001$), 第 21 位丝氨酸残基磷酸化增加了 2.1 倍 ($P < 0.05$), 而磷酸化的增加伴随着转录活性的下降。与 PPAR α 磷酸化水平的提高相对应, 细胞外信号调节激酶 ERK1 和 ERK2 的磷酸化也分别增加了 14 倍 ($P < 0.001$) 和 4.1 倍 ($P < 0.01$), 提示 ERK-MAPK 信号转导通路可能介导了 PPAR α 的磷酸化。与此相呼应, ERK1/2 抑制剂的处理使得 AR 诱导的 PPAR α 转录活性的抑制被显著改善 (达到对照的 78%, $P < 0.001$), 而 PI3K、p38、JNK 及 PKC 抑制剂处理则没有此作用。特别重要的是, 用 25 mM 浓度的葡萄糖处理 AML12 细胞也获得了与上述效应相似的结果。与在 5 mM 葡萄糖浓度下培养相比, 25 mM 葡萄糖的处理使得 AML12 细胞的 AR

的表达显著上调,同时引起 PPAR α / δ 转录活性下降和 ERK1/2 及 PPAR α 的磷酸化程度显著增加。用 AR siRNA 抑制 AR 表达后,25 mM 葡萄糖浓度处理下的 AML12 中 PPAR α 的磷酸化程度显著降低。

我们采用腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)在 C57BL/6 小鼠中诱导 I 型糖尿病。在 STZ-糖尿病小鼠中,AR 抑制剂处理或敲除 AR 基因,导致肝组织 ERK1/2 和 PPAR α 的去磷酸化,而且 AR 抑制剂处理使 ACO 的 mRNA 水平显著上升(44%, $P < 0.01$),载脂蛋白 ApoC3 的 mRNA 水平显著下降(34.8%, $P < 0.01$)。与此同时,血甘油三酯(TG)和游离脂肪酸水平也显著下降。另一方面,在 II 型糖尿病小鼠模型 db/db 小鼠中,AR 抑制剂的处理也导致肝组织 ERK1/2 和 PPAR α 显著的去磷酸化,同时伴随着 ACO 和载脂蛋白 ApoA5 的 mRNA 水平的显著上升(ACO 上升 92%, $P < 0.05$; ApoA5 上升 73%, $P < 0.05$)。与此相对应,肝 TG 和血 TG 水平显著下降,同时肝组织的油红染色结果也说明了 AR 抑制剂处理显著降低了 db/db 小鼠肝脏中性脂肪含量。

综上所述,AR 在肝脏中可对 PPAR α 的磷酸化及转录活性进行调控,进而影响动物体脂质代谢。AR 对 PPAR α 的调控作用在很大程度上是由 ERK1/2 信号转导通路介导的。

关键词: 醛糖还原酶; 过氧化物酶体增殖物激活受体 α ; 细胞外信号调节激酶
ERK1/2; 磷酸化; 脂质稳态

Abstract

Aldose reductase (AR) is implicated in the development of a number of diabetic complications but the underlying mechanisms remain to be fully elucidated. We performed this study to determine whether and how AR might influence hepatic peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) activity and lipid metabolism.

We first constructed an AR over-expressing vector, pFLAG-mAR, and co-transfected it with a reporter plasmid PPRE-tk-Luc containing peroxisome proliferator response element (PPRE) into mouse hepatocyte AML12 cells in the presence of a PPAR γ antagonist G3335. These transfection studies showed that AR over-expression caused strong suppression of PPAR α/δ activity (74%, $P < 0.001$). These suppressive effects were attenuated by selective AR inhibitor (ARI) zopolrestat. The AR-induced reduction in PPAR α/δ activities, on the other hand, was associated with down-regulated mRNA expression of acyl-CoA oxidase (ACO) (34.3%, $P < 0.01$) and carnitine palmitoyl transferase-1 (CPT-1) (23.3%, $P < 0.05$), two PPAR α target genes critical for fatty acid oxidation, suggesting AR is involved in the modulation of hepatic PPAR α activity to affect lipid metabolism. It was further demonstrated by Western blot that AR over-expression greatly increased phosphorylated PPAR α levels (2.2 folds for phospho-Serine-12 PPAR α , $P < 0.001$ and 2.1 folds for phospho-Serine-21 PPAR α , $P < 0.05$), which is consistent with down-regulated PPAR α activity. Paralleling this increase, there was a greatly increased phosphorylation of both ERK1 (14 folds, $P < 0.001$) and ERK2 (4.1 folds, $P < 0.01$), suggesting that the ERK-MAPK signaling pathway contributed to the increased PPAR α phosphorylation. In accordance with this, AR-induced suppression of PPAR α was attenuated (78% of the control level, $P < 0.001$) by treatment with inhibitor for ERK1/2 but not that for PI3K, p38, JNK and PKC. Importantly, similar effects were observed for cells exposed to 25 mM glucose. AR was up-regulated in AML12 cells after treated with 25 mM glucose, while PPAR α transcriptional activity was significantly suppressed, and that was associated with increased phosphorylation of PPAR α and ERK1/2. Knock down of AR by siRNA dephosphorylated PPAR α and

ERK1/2.

We investigated effects of AR on PPAR α in streptozotoxin (STZ)-induced diabetic C57BL/6 mice. Our results showed that ARI treatment or genetic deficiency of AR resulted in significant dephosphorylation of both hepatic PPAR α and ERK1/2. With the dephosphorylation of PPAR α , ARI treatment caused a 44% up-regulation of hepatic ACO mRNA expression ($P < 0.01$) and a 34.8% down-regulation of apolipoprotein ApoC3 mRNA expression ($P < 0.01$) in wild type STZ-diabetic mice, and that was associated with substantial reductions in blood triglyceride (TG) and non-esterified fatty acid (NEFA) levels. We further investigated effects of AR on PPAR α in Type 2 diabetes mellitus models. In db/db mice, ARI treatment also resulted in significant dephosphorylation of both PPAR α and ERK1/2. And hepatic ACO and apolipoprotein ApoA5 mRNA expression increased 92% ($P < 0.01$) and 73% ($P < 0.01$) respectively. Liver TG levels decreased significantly and serum TG levels also decreased significantly after ARI treatment. Oil red O staining of liver section also showed that neutral lipid contents were reduced after ARI treatment in db/db mice.

Together our data indicate that AR plays an important role in the regulation of hepatic PPAR α phosphorylation and activity and lipid homeostasis. A significant portion of the AR-induced modulation is achieved through ERK1/2 signaling.

Key Words: aldose reductase; peroxisome proliferator-activated receptor α ; ERK1/2; phosphorylation; lipid homeostasis

缩略语对照表

缩略语	英文	中文
ACO	acyl-CoA oxidase	酰基辅酶 A 氧化酶
Apo	apolipoprotein	载脂蛋白
ApoA5	apolipoprotein A- v	载脂蛋白 A- v
ApoC3	apolipoprotein C- III	载脂蛋白 C-III
AR	aldose reductase	醛糖还原酶
ARI	aldose reductase inhibitor	醛糖还原酶抑制剂
CM	chylomicron	乳糜微粒
CPT-1	carnitine palmitoyltransferase-1	肉碱棕榈酰转运酶-1
DBD	DNA binding domain	DNA 结合结构域
DEPC	diethyl pyrocarbonate	二乙基焦磷酸胺
DTT	dithiothreitol	二硫苏糖醇
ERK	extracellular signal-regulated kinase	细胞外信号调节激酶
Glc	glucose	葡萄糖
HDL	high-density lipoprotein	高密度脂蛋白
JNK	Jun N-terminal kinase	Jun 氨基末端激酶
LBD	ligand binding domain	配体结合结构域
LDL	low-density lipoprotein	低密度脂蛋白
LPL	lipoprotein lipase	脂蛋白脂酶
MAPK	mitogen-activated protein kinase	促分裂原活化蛋白激酶
NEFA	nonesterified fatty acids	非酯化（游离）脂肪酸
PKC	protein kinase C	蛋白激酶 C
PPAR	peroxisome proliferators-activated receptor	过氧化物酶体增殖物激活受体
PPRE	peroxisome proliferators-response element	过氧化物酶体增殖物反应元件
PI3K	phosphoinositide 3-kinase	磷脂酰肌醇-3 激酶

缩略语对照表

缩略语	英文	中文
RLU	relative luciferase unit	相对荧光素酶单位
RT-PCR	reverse transcript PCR	反转录 PCR
RXR	retinoid X receptor	视黄酸 X 受体
SDH	sorbitol dehydrogenase	山梨醇脱氢酶
SDS	sodium dodecyl sulfate	十二烷基磺酸钠
Ser	serine	丝氨酸
siRNA	small interfering RNA	小干扰 RNA
STZ	streptozotoin	链脲佐菌素
TC	total cholesterol	总胆固醇
TG	triglyceride	甘油三酯
Tris	trimethylsilyl	三（羟甲基）氨基甲烷
zopol	zopolrestat	唑泊司他
VLDL	very low-density lipoprotein	极低密度脂蛋白

第一章 前言

1.1 糖尿病与脂质代谢异常

1.1.1 糖尿病及其并发症

糖尿病（Diabetes Mellitus）是以持续性高血糖为基本特征的代谢性疾病。按照世界卫生组织（WHO）及国际糖尿病联盟（IDF）专家组的建议，糖尿病可分为 I 型、II 型、其他特殊类型及妊娠糖尿病 4 种。其中 I 型糖尿病即胰岛素依赖性糖尿病（IDDM），可发生在任何年龄，但多发生于青幼年，又叫青年发病型糖尿病，占糖尿病的 10% 以下。I 型糖尿病是依赖胰岛素治疗的，也就是说从发病开始就需使用胰岛素治疗，并且终身使用。原因在于 I 型糖尿病患者体内胰腺产生胰岛素的细胞已经彻底损坏，从而完全失去了产生胰岛素的功能。II 型糖尿病即非胰岛素依赖型糖尿病（NIDDM），也可发生在任何年龄，但多见于 40 岁以后中、老年，也叫成人发病型糖尿病，占糖尿病患者 90% 以上。II 型糖尿病患者体内产生胰岛素的能力并非完全丧失，有的患者体内胰岛素甚至产生过多，但胰岛素的作用效果却大打折扣，因此患者体内的胰岛素是一种相对缺乏。

由于长期的高血糖使糖尿病人常伴有全身的脏器组织损害，且缓慢地恶化，形成慢性并发症，常可危及生命。糖尿病慢性并发症包括大血管、微血管及神经病变，具体有：冠心病、高血压、脑血管病、肾脏病、眼部并发症（视网膜病变、白内障、屈光异常、糖尿病眼肌神经病变等）、神经病变（周围神经病变、植物神经病变及中枢神经病变）、糖尿病足、糖尿病皮肤病变、糖尿病性阳痿、糖尿病高脂血症等。中老年糖尿病患者常死于冠心病、心肌梗死、脑中风；青少年糖尿病患者常因并发肾功能衰竭而死亡。糖尿病并发感染、酸中毒、高渗性昏迷也是其主要的致死原因。糖尿病作为一种常见病，以其发病率高、致残致死率高而被列为人类疾病中的第三大杀手，仅次于癌症和心脑血管病。近年来糖尿病发病率逐年升高，医疗费用昂贵，造成巨大的社会负担和经济损失^[1-3]。

1.1.2 糖尿病血脂代谢异常

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库